BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 10 Campinas, Maio de 1950 N.º 5

SUMÁRIO

Pág.

EFEITO DA ÉPOCA DE SEMEAÇÃO NA PRODUÇÃO DO *HIBISCUS CANNABINUS* L. 125
J. C. Medina

INATIVAÇÃO DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DO FUMO PELO FILTRADO DE CULTURAS DE *TRICHODERMA* sp. 139
R. Forster

NOTA

Superbrotamento ou envassouramento da laranjeira 149
A. S. Costa, Sílvio Moreira, L. F. Arruda, Carlos Roessing e I. Dias Toledo.

Secretaria da Agricultura do Estado de São Paulo
Departamento da Produção Vegetal
CAIXA POSTAL 28 — CAMPINAS
Estado de São Paulo—Brasil

DEPARTAMENTO DA PRODUÇÃO VEGETAL

DIRETOR GERAL : — Teodureto de Camargo

Divisão de Experimentação e Pesquisas

INSTITUTO AGRONÔMICO

DIRETOR : — C. A. Krug

SUBDIVISÕES

SUBDIVISÃO DE GENÉTICA : — A. Carvalho (substituto).

Secção de Genética : — A. Carvalho, A. S. Costa, C. S. Novais Antunes, H. Antunes Filho, M. J. Purchio, E. B. Germeck, M. P. Penteado, C. Marozzi.

Secção de Citologia : — A. J. T. Mendes, C. H. T. Mendes, Dixier M. Medina.

Secção de Introdução de Plantas Cultivadas : — L. A. Nucci (substituto).

SUBDIVISÃO DE HORTICULTURA : — S. Moreira.

Secção de Citricultura e Plantas Tropicais : — S. Moreira, J. Ferreira da Cunha, O. Galli, J. Soubihe Sobrinho.

Secção de Olericultura e Floricultura : — O. de Toledo Prado, L. de Sousa Camargo, S. Alves.

Secção de Viticultura e Frutas de Clima Temperado : —J. R. A. Santos Neto, O. Rigitano, O. Zardeto de Toledo, P. V. C. Bittencourt, J. B. Bernardi, E. P. Guião.

SUBDIVISÃO DE PLANTAS TÊXTEIS : — I. Ramos, O. S. Neves (substituto).

Secção de Algodão : — I. Ramos, O. S. Neves (substituto), V. Schmidt, H. de Castro Aguiar, E. S. Martinelli, P. A. Cavaleri.

Secção de Plantas Fibrosas Diversas : — J. Vizioli, J. C. Medina, F. A. Correia, G. de Paiva Castro.

SUBDIVISÃO DE ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS : — C. A. Krug, assistido por S. Moreira.

BRAGANTIA

Redação Técnica : A. Carvalho e A. Pais de Camargo.
Redação : B. Cavalcante Pinto e Ciro Alves Mourão.

Assinatura anual, Cr$ 50,00. — Para engenheiros agrônomos, 50% de abatimento.

Tôda correspondência deve ser dirigida à Redação de BRAGANTIA —Caixa postal 28. CAMPINAS — Est. de São Paulo — BRASIL.

BRAGANTIA

Boletim Técnico da Divisão de Experimentação e Pesquisas
INSTITUTO AGRONÔMICO

Vol. 10 Campinas, Maio de 1950 N.º 5

EFEITO DA ÉPOCA DE SEMEAÇÃO NA PRODUÇÃO DO *HIBISCUS CANNABINUS* L.

J. C. MEDINA

Engenheiro agrônomo, Secção de Plantas Fibrosas Diversas, Instituto Agronômico de Campinas

1 - INTRODUÇÃO

A Papoula de São Francisco (*Hibiscus cannabinus* L.) é uma planta herbácea, amplamente disseminada pelas regiões tropicais e subtropicais, que, periòdicamente, tem despertado interêsse como fonte de fibra liberiana macia similar à juta indiana. Já foi amplamente cultivada na Índia, e, em certa época, a cultura do "patsan", "ambari" ou "mestapat", como é ali denominada, teve maior importância que a própria juta, fornecendo a fibra conhecida pelas designações de "Deccan Hemp", "Ambari Hemp", "Gambo Hemp" ou "Bimlipatan Hemp". Na Rússia, tanto a planta como a fibra, conhecidas pela denominação de "kenaf", foram amplamente estudadas, seja em relação às exigências culturais da planta, seja em relação aos processos de extração e industrialização da fibra. Também já foi cultivada em Java, em certa extensão, e a fibra, conhecida pelo nome de "Juta de Java", era empregada na manufatura de sacaria para açúcar. Atualmente, está sendo cultivada em pequena escala na África Oriental Francesa, onde é conhecida pela denominação de "dah".

Durante a última guerra mundial, na expectativa de privação dos suprimentos de juta indiana, a planta do "kenaf", como é agora mais conhecida nas Américas, recebeu particular atenção nas investigações realizadas no hemisfério ocidental, com o objetivo de determinar a praticabilidade da produção de fibras congêneres à juta, principalmente na América Central. A produção do "kenaf" foi encorajada mediante contratos firmados entre os produtores e o "Board of Economic Welfare", do govêrno dos Estados Unidos da América do Norte. Nessa ocasião, o "kenaf" foi introduzido em Cuba, como planta produtora de fibra substituta da juta na manufatura de sacaria para açúcar, estabelecendo-se, entre o govêrno Cubano e o "U. S. Inter-Departmental Committee", um amplo plano de experimentação para determinar as possibilidades da produção dessa fibra.

No Brasil, e especialmente no Estado de São Paulo, o *H. cannabinus*, conhecido pelas denominações vulgares de "Papoula de São Francisco", "Cânhamo Brasileiro" ou "Cânhamo Perini", já foi objeto de alguma experimentação nos primórdios das atividades do Instituto Agronômico de Campinas. Até

há pouco tempo foi cultivado em pequena escala, na região do vale do Rio Paraíba, tendo sido a fibra trabalhada com sucesso nas indústrias de aniagens, que normalmente consomem a juta indiana como matéria-prima.

Apesar das várias tentativas de implantação, no Estado de São Paulo, da cultura dessa malvácea e de outras espécies produtoras de fibras similares à juta, a exploração agrícola dêsses "sucedâneos" não prosperou em nosso meio. Também nenhuma pesquisa séria sôbre os vários problemas relacionados com a sua produção econômica, desde os processos culturais até a extração mecânica e industrialização da fibra, jamais foi empreendida, desconhecendo-se mesmo o comportamento e exigências das diversas espécies fibrosas liberianas nas diferentes regiões e tipos de solo que ocorrem no Estado. Daí o fracasso das tentativas isoladas de alguns pioneiros.

Diante dessa lacuna de dados experimentais básicos para a implantação no Estado dessa atividade agrícola, a Secção de Plantas Fibrosas Diversas estabeleceu, como medida preliminar, um amplo plano de pesquisas para determinar o comportamento e produção, em diferentes regiões e tipos de solo do planalto paulista, daquelas espécies fibrosas liberianas mais em evidência, inclusive a própria juta. Instalou-se, assim, no ano agrícola 1947/48, uma série de experimentos comparativos de produção com *H. cannabinus* L., *Urena lobata* L. (guaxima), *Crotalaria juncea* L. e *Corchorus olitorius* L. (juta), em quatro épocas de semeação, abrangendo onze Estações Experimentais do Instituto Agronômico de Campinas.

Essa investigação foi continuada em 1948/49 e 1949/50, tendo-se considerado êste último ano agrícola como a etapa final da pesquisa. O presente trabalho tem por objetivo apresentar os resultados obtidos com o *H. cannabinus* durante êsse triênio de experimentação. Embora tôdas as espécies estudadas estivessem incluídas no mesmo experimento, em blocos ao acaso de parcelas subdivididas, as produções de cada uma delas serão analisadas separadamente, visto tratar-se de plantas de espécies e mesmo famílias botânicas diferentes. Em próximos artigos serão apresentados os resultados obtidos com as demais espécies.

2 - MATERIAL E MÉTODOS

As sementes de *H. cannabinus* utilizadas na instalação dos experimentos provieram de um lote de sementes fornecido pela direção da Estação Experimental Central, em 1940, a qual desconhecia a sua origem.

Os experimentos foram instalados em blocos ao acaso com quatro parcelas, repetidos quatro vêzes. Cada parcela, subdividida em quatro subparcelas, foi semeada com uma das espécies fibrosas em competição, de acôrdo com as seguintes épocas de semeação :

Época	*Data da semeação*
Primeira	15 de outubro
Segunda	30 „ „
Terceira	15 „ novembro
Quarta	30 „ „

Nos experimentos de 1947/48, cada subparcela compreendia doze fileiras de plantas (dez fileiras úteis e duas marginais), distanciadas, entre si, 20 centímetros. No caso do *H. cannabinus*, a semeação foi feita em linha

corrida, na base de 1 grama de sementes por metro linear, correspondendo a 50 quilos de sementes por hectare. Entretanto, nos experimentos de 1948/49 e 1949/50, as distâncias entre fileiras foram aumentadas para 30 centímetros, a fim de facilitar as operações de capina, mantendo-se a mesma base de semeação de 1 grama de sementes por metro linear, correspondendo agora a 33 quilos de sementes por hectare. Para conservar a mesma área das subparcelas, isto é, 10 m², o número de fileiras nestes dois últimos anos agrícolas foi reduzido para dez, sendo oito fileiras úteis e duas marginais.

O preparo do terreno foi executado da maneira usual, não se aplicando, em nenhum dos anos agrícolas, qualquer adubação nos experimentos.

Devido à falta de meios para efetuar a maceração dos caules das plantas colhidas, a presente investigação restringiu-se à determinação da produção de massa verde para cada época de semeação. Os dados de "produção provável" de fibra, citados neste trabalho, baseiam-se em resultados obtidos em um ensaio preliminar de maceração, realizado em 1944, no qual se obtiveram, para o *H. cannabinus*, em média, 4,2% de fibras sôbre caules verdes enfolhados. Devido, também, à ausência de dados concretos sôbre a época de corte dos caules, sob as nossas condições, adotou-se, como regra, colhêr os caules durante a fase de pleno florescimento das plantas.

3 - RESULTADOS

3.1 - ANO AGRÍCOLA 1947/48

Neste ano agrícola foram instalados onze experimentos, distribuídos nas localidades indicadas no quadro 1.

QUADRO 1. — Produção média de massa verde de *H. cannabinus*, em quilos por subparcela de 10 m², em cada época de semeação e localidade, nos experimentos do ano agrícola 1947/48. Médias de 4 repetições

Localidades	Produção de massa verde nas épocas				"F" para épocas	Diferença mínima significativa (P=0,05)
	Primeira	Segunda	Terceira	Quarta		
	kg	*kg*	*kg*	*kg*		*kg*
Pindorama	69,2	69,3	53,4	36,2	6,49 *	± 9,9
Mococa	48,3	49,0	26,9	17,7	25,78 **	± 4,9
Ribeirão Prêto	46,2	57,3	48,7	39,9	2,20 n.s.	----------
Capão Bonito	62,3	64,4	52,2	49,9	3,02 *	± 4,7
Tatuí	56,4	56,6	44,4	37,5	18,16 **	± 3,5
Limeira	24,2	26,6	22,0	18,6	0,53 n.s.	----------
Santa Rita	23,5	17,2	9,0	5,2	44,61 **	± 1,9
Jaú	18,8	17,2	13,5	8,5	3,44 n.s.	----------
Campinas	28,4	27,3	24,4	14,9	11,08 **	± 4,9
Tietê	36,7	36,2	34,5	24,7	5,14 *	± 4,0
Tupi	20,2	29,6	17,2	7,9	13,58 **	± 3,9

* = significativo (5%) ** = altamente significativo.

No experimento localizado em Campinas, as plantas de uma das repetições foram totalmente destruídas por saúvas, ao passo que, em Ribeirão Prêto, ocorreu um ataque generalizado de nematóides. Devido ao atraso no preparo da terra, a primeira época de semeação dos experimentos de Mococa e Limeira foi transferida para 20 e 30 de outubro, respectivamente, conservando-se, porém, o mesmo intervalo de 15 dias entre as demais épocas de semeação.

No quadro 1 encontram-se os dados médios de produção de massa verde, em quilos, em cada época de semeação e localidade, assim como a indicação do efeito das diferentes épocas de semeação sôbre a produção de massa verde e os valores da diferença mínima significativa para P=0,05.

Os dados do quadro 1 mostram que, em cinco localidades — Mococa, Tatuí, Santa Rita, Campinas e Tupi — o efeito das épocas de semeação sôbre a produção de massa verde foi altamente significativo. Em três outras localidades — Pindorama, Capão Bonito e Tietê — o efeito já foi apenas significativo, ao passo que, em Ribeirão Prêto, Limeira e Jaú, não houve diferença significativa de produção devido à época de semeação.

De modo geral, as produções das duas primeiras épocas de semeação, correspondendo a 15 e 30 de outubro, respectivamente, se equivaleram; geralmente, porém, foram superiores às produções das épocas mais tardias, principalmente em relação à de 30 de novembro.

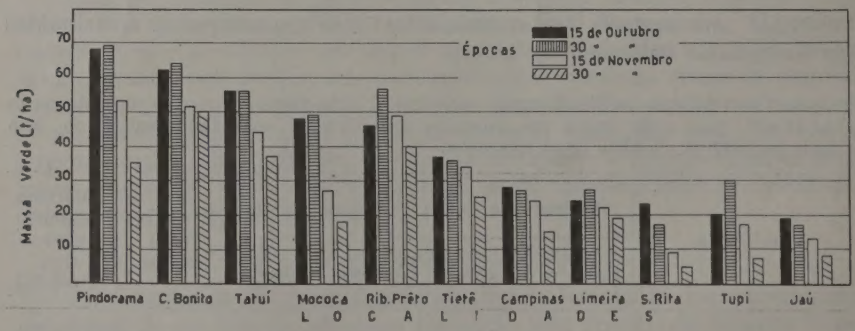

FIGURA 1.—Produções médias de massa verde do *H. cannabinus*, em toneladas por hectare, em cada época de semeação e localidade, no ano agrícola 1947/48.

Na figura 1 estão representadas as produções em cada época de semeação e localidade, em toneladas por hectare. Nota-se que as produções correspondentes a Pindorama, Capão Bonito, Tatuí, Mococa e Ribeirão Prêto, principalmente aquelas das duas primeiras localidades, foram bastante satisfatórias.

3.2 - ANO AGRÍCOLA 1948/49

Em continuação com a pesquisa para determinar o efeito da época de semeação sôbre a produção de massa verde do *H. cannabinus*, foram insta-

lados, no ano agrícola 1948/49, mais onze experimentos de épocas de semeação, nas mesmas localidades, referentes ao ano agrícola anterior.

Durante a execução dos experimentos dêste ano agrícola, não houve nenhuma ocorrência a relatar, a não ser que, nos experimentos de Jaú e Limeira, a colheita dos caules foi realizada quando as plantas já apresentavam os frutos completamente maduros.

No quadro 2 estão indicadas as produções médias de massa verde, em quilos, em cada época de semeação e localidade, assim como o efeito das diferentes épocas de semeação sôbre a produção e os valores da diferença mínima significativa para P=0,05.

Os dados do quadro 2 mostram que, no ano agrícola 1948/49, em quatro localidades — Pindorama, Mococa, Santa Rita e Tietê — o efeito das épocas de semeação sôbre a produção de caules com fôlhas foi altamente significativo. Em quatro outras localidades — Ribeirão Prêto, Capão Bonito, Tatuí e Jaú — o efeito já foi apenas significativo, e, em Limeira, Campinas e Tupi, o efeito não foi significativo.

Quadro 2. — Produção média de massa verde de *H. cannabinus*, em quilos por subparcela de 10 m^2, em cada época de semeação e localidade, nas experiências do ano agrícola 1948/49. Médias de 4 repetições

Localidades	Produção de massa verde nas épocas				"F" para épocas	Diferença mínima significativa (P=0,05)
	Primeira	Segunda	Terceira	Quarta		
	kg	*kg*	*kg*	*kg*		*kg*
Pindorama	34,8	45,5	45,6	48,6	7,79 **	± 3,5
Mococa	72,8	54,3	45,1	43,1	17,23 **	± 5,2
Ribeirão Prêto	79,4	85,4	67,7	51,0	5,05 *	± 10,8
Capão Bonito	78,0	72,0	71,0	51,4	5,56 *	± 7,8
Tatuí	96,3	106,8	79,1	74,4	4,25 *	± 11,7
Limeira	14,2	15,9	9,4	10,5	1,80 n.s.	----------
Santa Rita	54,0	44,2	28,2	27,0	32,50 **	± 3,6
Jaú	20,2	32,5	21,5	23,9	4,33 *	± 4,2
Campinas	32,5	28,8	23,4	25,3	1,63 n.s.	----------
Tietê	79,9	76,7	69,5	56,5	15,75 **	± 4,2
Tupi	38,5	36,3	31,6	32,3	1,02 n.s.	± 5,2

* =significativo (5%) ** = altamente significativo (1%).

Com exceção de Pindorama e Limeira, nas demais localidades as produções neste ano agrícola foram bem superiores àquelas do ano agrícola anterior, principalmente em Ribeirão Prêto, Tatuí, Capão Bonito, Mococa e Tietê. Novamente ficou evidente a superioridade das duas primeiras épo-

cas de semeação, correspondendo a 15 e 30 de outubro, sôbre as duas épocas mais tardias, correspondendo a 15 e 30 de novembro.

Na figura 2 estão representadas as produções médias de massa verde, em toneladas por hectare, em cada época de semeação e localidade experimentada.

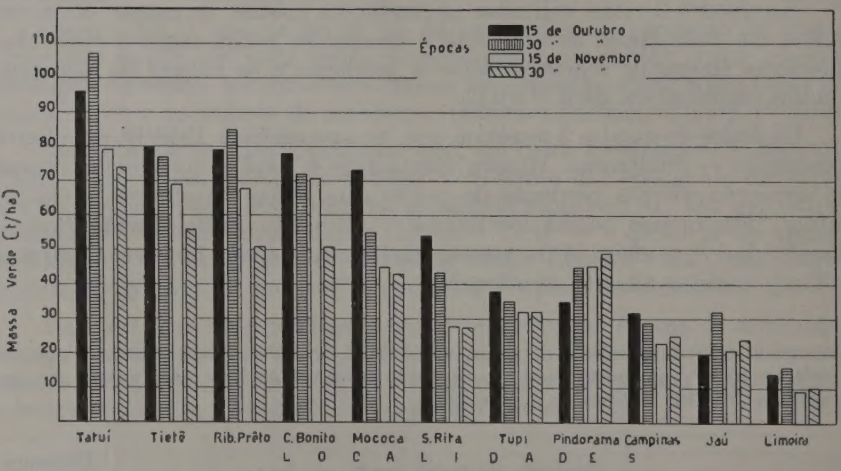

FIGURA 2.—Produções médias de massa verde de *H. cannabinus*, em toneladas por hectare, em cada época de semeação e localidade, no ano agrícola 1948/49.

3.3 - ANO AGRÍCOLA 1949/50

Finalizando a presente pesquisa, foram instalados, durante o ano agrícola de 1949/50, mais dez experimentos, nas mesmas localidades, referentes aos anos agrícolas anteriores, tendo-se deixado de instalar, entretanto, por falta de sementes, o correspondente a Campinas.

Devido, porém, à grande irregularidade na germinação das sementes e crescimento das plantas, o experimento de Limeira foi considerado perdido, o mesmo acontecendo com uma das repetições do experimento de Ribeirão Prêto.

No quadro 3 estão indicados os dados médios de produção de massa verde, em quilos, em cada época de semeação e localidade, assim como o efeito das diferentes épocas de semeação sôbre a produção e os valores da diferença mínima significativa para $P = 0{,}05$.

Os dados do quadro 3 mostram que, no ano agrícola 1949/50, em duas localidades — Pindorama e Jaú — o efeito da época de semeação sôbre a produção de massa verde foi altamente significativo. Em três localidades

QUADRO 3.—Produção média de massa verde, em quilos, por subparcela de 10 m², em cada época de semeação e localidade, nos experimentos do ano agrícola 1949/50. Médias de 4 repetições

Localidades	Produção de massa verde nas épocas				"F" para épocas	Diferença mínima significativa (P=0,05)
	Primeira	Segunda	Terceira	Quarta		
	kg	*kg*	*kg*	*kg*		*kg*
Pindorama	78,1	52,6	56,4	35,9	67,32 **	± 3,3
Mococa	41,7	48,7	40,0	30,4	1,16 n.s.	----------
Ribeirão Prêto	58,0	33,8	37,0	32,0	5,00 *	± 10,7
Capão Bonito	67,5	56,5	50,5	57,5	5,61 *	± 4,7
Tatuí	103,0	115,6	92,5	88,0	1,82 n.s.	----------
Santa Rita	18,2	14,5	14,0	7,5	3,14 n.s.	----------
Jaú	73,2	69,9	69,2	60,4	4,39 **	± 4,1
Tietê	64,5	60,5	50,5	51,0	5,68 *	± 4,7
Tupi	50,0	49,2	40,4	33,8	2,44 n.s.	----------

* = significativo (5%) ** = altamente signficativo (1%).

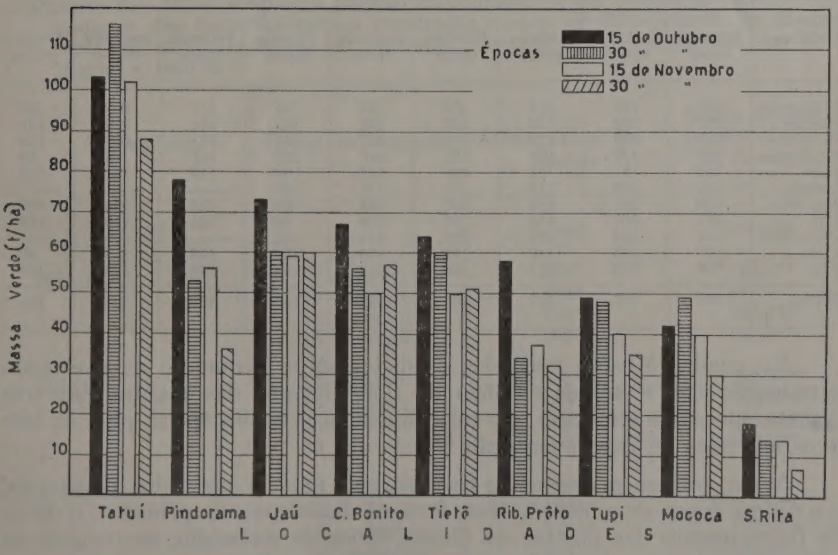

FIGURA 3.—Produções médias de massa verde do *H. cannabinus*, em toneladas por hectare, em cada época de semeação e localidade, no ano agrícola 1949/50.

— Ribeirão Prêto, Capão Bonito e Tietê — o efeito de época de semeação sôbre a produção foi apenas significativo, ao passo que em quatro localidades — Mococa, Tatuí, Santa Rita e Tupi — não houve diferença significativa de produção entre as épocas de semeação.

Na figura 3 estão representadas as produções médias de massa verde, em toneladas por hectare, em cada época de semeação e localidade.

4 - DISCUSSÃO

Supondo a produção de massa verde da última época de semeação — 30 de novembro — igual a 100, que, com raras exceções, corresponde às produções mais baixas, obteríamos para as demais épocas, em cada localidade e ano agrícola, as proporções apresentadas no quadro 4.

Os dados do quadro 4 mostram, portanto, que, em média, nos três anos agrícolas considerados, o aumento de produção de massa verde nas três primeiras épocas de semeação, em relação àquela da última época, foi de 65%, 59% e 26%, para a primeira, segunda e terceira épocas de semeação, respectivamente.

QUADRO 4. — Relação entre as produções médias de massa verde das três primeiras épocas de semeação e as da ultima época, consideradas igual a 100, por localidade e ano agricola

Localidades	1947/48			1948/49			1949/50		
	Primeira época	Segunda época	Terceira época	Primeira época	Segunda época	Terceira época	Primeira época	Segunda época	Terceira época
Pindorama	191	191	147	72	94	94	217	146	157
Mococa ..	273	277	152	169	126	105	137	160	131
R. Prêto..	116	146	122	156	167	133	181	106	116
C. Bonito	125	129	105	152	140	138	117	98	88
Tatuí	150	151	118	129	143	106	117	131	105
Limeira ..	130	143	118	135	151	89	---	---	---
Sta. Rita.	452	331	173	200	164	104	243	193	187
Jaú	221	202	159	85	136	90	121	116	114
Campinas	191	183	164	128	114	92	---	---	---
Tietê	148	146	140	141	136	123	126	119	99
Tupi	256	375	218	119	112	98	148	145	119
Média ...	205	207	147	135	135	106	156	135	124

No quadro 5 estão indicados os dados sôbre o número de dias para germinação das sementes e início de florescimento das plantas das três últimas épocas de semeação, em relação aos da primeira época, para os três anos agrícolas de experimentação.

Assim, embora as semeações tivessem sido feitas a intervalos quinzenais, e a última época de semeação fôsse feita 45 dias depois da primeira, o início de florescimento das plantas da última época de semeação, em relação às plantas da primeira época de semeação, foi, em média, apenas de 9,4, 11,6 e 11,1 dias mais tarde, nos anos agrícolas de 1947/48, 1948/49 e 1949/50, respectivamente.

Quadro 5.—Média de dias decorridos para germinação das sementes e início de florescimento do *H. cannabinus* da 2.ª, 3.ª e 4.ª épocas de semeação, em relação à 1.ª época

Ano agrícola	Número de dias para germinação em relação à primeira época			Número de dias para início do florescimento em relação à primeira época		
	Segunda época	Terceira época	Quarta época	Segunda época	Terceira época	Quarta época
1947/48(1).....	15,2	31,2	46,1	3,4	6,9	9,4
1948/49(2).....	9,0	23,7	41,6	2,7	7,6	11,6
1949/50(3).....	14,8	28,3	41,4	3,1	7,7	11,3

(1) Médias de 8 localidades. (2) Médias de 10 localidades. (3) Médias de 9 localidades.

No quadro 6 estão indicados os dados referentes à altura média das plantas, em centímetros, por ocasião da colheita, e ao número médio de dias para germinação das sementes e início de florescimento do *H. cannabinus*, nas diferentes épocas de semeação, durante os anos agrícolas de 1947/48, 1948/49 e 1949/50. Isso indica que essa planta exibe uma marcante reação à duração do dia (fotoperiodismo).

Quadro 6.—Altura média das plantas, em centímetros, por ocasião do corte, e número médio de dias decorridos entre a germinação e início de florescimento do *H. cannabinus*, em diferentes épocas de semeação, durante os anos agrícolas de 1947/48, 1948/49 e 1949/50

Ano agrícola	Época de semeação	Altura média das plantas	Média de dias entre germinação e início de florescimento
		cm	*número*
1947/48	15 outubro	202*	149,6**
	30 outubro	200*	137,9**
	15 novembro	183*	125,4**
	30 novembro	169*	112,9**
1948/49	15 outubro	232*	139,2***
	30 outubro	218*	133,9***
	15 novembro	208*	123,1***
	30 novembro	194*	109,5***
1949/50	15 outubro	198**	143,5*
	30 outubro	183**	131,9*
	15 novembro	176**	122,9*
	30 novembro	164**	113,8*

* = médias de 9 localidades ** = médias de 8 localidades *** = médias de 10 localidades.

Os dados do quadro 6 mostram que, quanto mais tardia a época de semeação, tanto menor era a altura média das plantas, assim como a duração de seu ciclo vegetativo. Em consequência, a produção de massa verde vai decrescendo da primeira para a última época de semeação. O exame dos registos de chuvas nas diferentes localidades experimentadas mostrou que não havia nenhuma relação entre as produções das diferentes épocas de semeação e as precipitações pluviométricas ocorridas durante a semeação e florescimento das plantas.

Analisando, conjuntamente, para cada localidade, as produções obtidas no triênio agrícola 1947/50, obtivemos os "F" calculados para os efeitos ano, época e a interação ano x época, indicados no quadro 7.

Os dados do quadro 7 mostram que o efeito anos foi altamente significativo, isto é, ocorreu grande variação na produção devida a anos, o mesmo acontecendo em relação ao efeito épocas de semeação. Em duas localidades, Pindorama e Santa Rita, a interação ano x época de semeação foi altamente significativa, isto é, houve um comportamento diferencial das épocas nos diferentes anos agrícolas, ao passo que em duas localidades — Capão Bonito e Jaú — o comportamento diferencial das épocas de semeação foi menos acentuado, isto é, apenas significativo a 5%. Finalmente, em quatro localidades — Mococa, Tatuí, Tietê e Tupi — as épocas de semeação mantiveram-se estáveis nos anos agrícolas considerados.

QUADRO 7.— Resultados do "F" calculado para os efeitos anos e épocas de semeação, assim como para a interação ano x época, da análise de produções do triênio agrícola 1947/50, por localidade

Localidade	"F" calculado		
	Ano	Época	Interação ano x época
Pindorama	13,88**	14,43**	11,36**
Mococa	15,68**	16,25**	2,38
Capão Bonito	10,69**	11,08**	2,96*
Tatuí	61,57**	9,26**	0,31
Jaú	561,95**	7,54**	3,23*
Santa Rita	186,54**	48,11**	5,42**
Tietê	200,63**	22,06**	2,06
Tupi	45,74**	8,63**	1,22

* = significativo (5%) ** = altamente significativo (1%).

Finalmente, supondo apenas as produções obtidas na primeira época de semeação, que foi, em geral, a melhor época, e uma percentagem de "fibra provável" de 4,2% sôbre caules verdes enfolhados, obteríamos, em média, no triênio agrícola 1947/50, por localidade, as produções prováveis de massa verde e fibra, em quilos por hectare, indicadas no quadro 8.

Quadro 8.—Produção média de massa verde e "fibra provável", em quilos por hectare, para o triênio agrícola 1947/50 e por localidade, na primeira época de semeação (15 de outubro)

Localidade	Produção de massa verde	"Produção provável" de fibra
	kg	*kg*
Pindorama	60 700	2 549
Mococa	54 266	2 279
Ribeirão Prêto	61 200	2 570
Capão Bonito	69 266	2 909
Tatuí	85 233	3 580
Santa Rita	31 900	1 340
Jaú	37 400	1 571
Tietê	63 266	2 657
Tupi	36 233	1 522

As experiências aqui relatadas foram conduzidas em diversas localidades representativas dos diferentes tipos de solo do Estado, desde os mais férteis, como a terra roxa legítima, até os do glacial e arenito de Botucatu, que são os mais pobres. É interessante observar que justamente nas localidades com solos de formação glacial, como ocorre em Tatuí, Capão Bonito e Tietê, é que foram obtidas, em média, as produções de massa verde mais elevadas, como mostram os dados do quadro 8. Convém salientar, entretanto, que as produções indicadas neste quadro não devem ser interpretadas como representativas de produções a serem esperadas na grande cultura, mas apenas como indicativas de "produção provável", apesar de não terem sido aqui considerados outros fatôres que podem intervir na produção, como densidade de semeação, espaçamento, adubação, etc. O valor de qualquer fibra nova é frequentemente computado em relação ao valor das fibras com que competirá em um determinado campo industrial. De fato, na produção de uma fibra equivalente à juta indiana, por exemplo, não basta que apresente boas qualidades têxteis e em condições de ser utilizada na indústria de aniagens : é preciso, antes, que a sua produção seja econômica, de modo que concorra vantajosamente com a similar importada, sem necessidade de medidas protecionistas.

A grande procura no Estado está dirigida para fibras de baixo valor, que são manufaturadas em artigos também de baixo valor. Isso significa que seria difícil de se conseguir aqui, considerando o elevado custo de mão de obra, a produção barata de fibras próprias para consumo na indústria de aniagens, através do oneroso processo da maceração.

A praticabilidade da produção do "kenaf", como substituto da juta, apenas seria viável no caso de essa fibra poder ser comercializada aos preços-teto da juta ou algo inferiores, com margem satisfatória de lucro aos produtores. As propriedades dessa fibra não são suficientemente diferentes, de

modo que justifiquem maiores preços para ser industrializada em artigos que normalmente são manufaturados com a juta.

O problema da extração da fibra do "kenaf" poderia constituir o maior óbice à produção econômica da cultura no Estado. O tradicional processo de maceração empregado na Índia, para extração da fibra da juta, não seria aqui econômico, pois os nossos salários são relativamente elevados e a mão de obra é relativamente escassa.

Felizmente, porém, a cultura do "kenaf" poderá ser feita totalmente por meios mecânicos, desde a semeação até o corte dos caules, e, o que é mais importante, êstes também podem ser desfibrados mecânicamente. Dêsse modo, a fibra do "kenaf" poderá agora competir vantajosamente com a juta indiana, uma cultura que na Índia é quase totalmente realizada por trabalho manual.

Em Cuba, o "kenaf" é atualmente semeado mecânicamente, por meio de semeadeiras semelhantes às de arroz e outros cereais, e a colheita dos caules executada com ceifadeiras de cânhamo, adaptadas. Para a desfibragem estão empregando com sucesso as desfibradeiras automáticas de henequém, sendo os feixes de caules transportados diretamente da cultura para o galpão de desfibragem. Estas máquinas retiram, por meio de raspagem, o lenho e resíduos vegetais, deixando a fibra limpa que, em seguida, é secada ao sol. A capacidade destas máquinas é estimada em cêrca de 7 toneladas de fibra sêcas por 10 horas de serviço. Na base de 4 % de fibras sêcas sôbre caules verdes enfolhados, isso equivaleria à desfibragem de 175 toneladas diárias de massa verde, correspondente à produção de cêrca de 4 hectares plantados com "kenaf".

Com base, portanto, nos dados experimentais relatados neste trabalho e nas informações sôbre a desfibragem mecânica do "kenaf", executada com sucesso em Cuba, justifica-se plenamente o amparo oficial no estabelecimento e desenvolvimento da cultura desta malvácea no Estado, como uma fonte doméstica de fibra similar à juta indiana, própria para ser industrializada sem qualquer entrave nas cardas da nossa indústria de aniagens.

SUMMARY

In order to determine the effect of planting time on growth and yield of kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.), experimental trials in randomized blocks were conducted on various soils in different localities of the State of São Paulo, during the crop years 1947-48, 1948-49, and 1949-50.

Plantings were made at 15 day intervals, beginning Octobre 15, and ending November 30, in rows 20 cm appart and seeded at the rate of 50 kilograms of seed per hectare in the 1947-48 plantings, and in rows 30 cm appart and seeded at the rate of 33 kilograms of seed per hectare in the 1948-49 and 1949-50 plantings.

Harvest operations were carried out at the time the plants were in full bloom and green weight of foliated stems were determined.

Average yield data showed that higher yields of green foliated stems were obtained from plantings made on October 15 and October 30. The data on average height attained by the plants for each date of plantings tested show a decrease from the first (Oct. 15) to the last (Nov. 30) plantings.

It was found that in spite of the fact that the last planting were made 45 days after the first planting, there was a difference of only 11 days in the time of opening of the first flower. This is due to the fact that kenaf exhibits a marked response to length of day (photoperiodism).

The results obtained in this investigation showed that kenaf is a fibrous bast plant well adapted to cultivation on various soils types and in different locations in the State of São Paulo.

Experience in Cuba indicates that production of kenaf can be mechanized both in the field and decorticating operations. This possibility of mechanization plus the indication of substancial yields indicated by the present tests, fully justifies official encouragement for further study and development of this plant as a domestic source of jute-like fiber that might be used in coffee bag manufacture.

INATIVAÇÃO DO VÍRUS DO MOSAICO COMUM DO FUMO PELO FILTRADO DE CULTURAS DE *TRICHODERMA* sp. (1)

R. Forster (2)

Engenheiro agrônomo, Secção de Genética, Instituto Agronômico de Campinas

1 - INTRODUÇÃO

Os microrganismos têm sido experimentados frequentemente como inativadores de vírus. Johnson e Hoggan (2) foram os primeiros a empregar o fungo *Trichoderma* sp. para inativar o vírus do mosaico comum do fumo, adicionando extrato de plantas infetadas pelo vírus ao meio de cultura do fungo. Tecidos vegetais, de plantas infetadas, foram utilizados com a mesma finalidade. Êsses autores verificaram que o fungo *Trichoderma* sp. não é um inativador excepcional de vírus, apesar de sua grande capacidade de destruir celulose. Weindling (6) menciona *Trichoderma* sp. como produtor de substâncias tóxicas contra outros microrganismos, tendo isolado posteriormente o princípio ativo dêsse fungo (7, 8, 9). Waksman e Horning (5) isolaram dois "strains" dentro do grupo *Trichoderma* sp., ambos com propriedades antagônicas às bactérias, se bem que não tenham constatado ação totalmente eficiente, em seus ensaios.

No presente trabalho são apresentados alguns resultados de inativação de vírus do mosaico comum do fumo, contido em extratos líquidos de plantas de fumo infetadas empregando, como inativador, filtrados de culturas de *Trichoderma* sp. crescidas em meio líquido.

2 - MÉTODOS

Nos ensaios adiante relatados usou-se um "strain" do vírus do mosaico do fumo que vinha sendo empregado nos trabalhos experimentais no Departamento de Fitopatologia da Universidade da Califórnia, em Berkeley. Das plantas de fumo infetadas com êsse "strain" do vírus, coletaram-se as fôlhas, que foram mantidas em cubas de vidro, em compartimentos com temperatura abaixo de 0° C, até o momento de serem utilizadas.

A fim de preparar o extrato contendo o vírus, as fôlhas infetadas foram moídas em um picador de carne, após receberem 3 por cento, em pêso, de K_2HPO_4 em pó, como "buffer". O material picado foi espremido e o líquido filtrado a grosso, em tecido-pano de malha fina, foi submetido à centrifugação a 2500 rotações por minuto em ambiente de laboratório, durante

---

(1) Trabalho executado no Departamento de Fitopatologia da Universidade da Califórnia, EE. UU., da qual o autor recebeu uma bôlsa de estudos em 1945.

(2) O autor agradece ao Prof. T. E. Rawlins, do Departamento de Fitopatologia da Univ. da Califórnia, a orientação dada na execução dêste trabalho.

30 minutos. Posteriormente, o líquido foi filtrado em "celite filter" e, finalmente, em um filtro Berkefeld-V. Após esta operação, pequenas amostras, colocadas em tubos de ensaio, foram mantidas em temperatura próxima de 0° C, aguardando uso. A fim de se comprovar se o extrato não fôra contaminado por microrganismos, foi submetido a teste pela inoculação em meio de cultura, em caixas de Petri, mantidas em estufas a 22° C.

A cultura monospórica do fungo foi preparada em frascos de Erlenmayer, em meio líquido, para obtenção do filtrado contendo o inativador. Quando a cultura do fungo se mostrou suficientemente desenvolvida, os frascos foram esterilizados a 110° C e, posteriormente, mantidos em geladeira a 0° C. Para ser usado em mistura com o filtrado contendo vírus, o meio de cultura líquido foi filtrado em papel de filtro, com o fim de eliminar os esporos e micélios, agora já mortos pela esterilização mencionada. Salvo menção ao contrário, a mistura dos dois filtrados, isto é, um contendo o vírus e outro contendo o inativador, atingiu a diluição de 1:10. As inoculações dessa mistura em plantas sadias, a fim de se submeter a inativação a teste, foram efetuadas com um pincel pequeno, de pêlos moles, que era molhado na mistura e esfregado sôbre as fôlhas das plantas.

Para êsses testes foram empregadas plantas de *Nicotiana glutinosa* inoculando a metade longitudinal da esquerda da fôlha com a mistura de inativador e vírus, e a metade da direita com o filtrado das plantas inoculadas contendo o vírus.

Os quadros 1 e 2 contêm os resultados, em números de lesões locais obtidas pelas inoculações. Inicialmente, as fôlhas inoculadas em cada planta foram numeradas. Em vista, porém, do fato de que a variação em número de lesões locais não se mostrou influenciada pela posição relativa da fôlha na planta, as contagens foram agrupadas para cada um dos tratamentos. Os resultados são expressos em percentagens do número de lesões locais obtidas do tratado sôbre o testemunha.

3 - INATIVAÇÃO DO VÍRUS

O fungo *Trichoderma* sp. foi cultivado em frascos de Erlenmayer contendo um meio líquido, de acôrdo com Weindling (6) e composto de 2,5 gramas de glicose, 2 gramas de bactopeptona, 2 gramas de KH_2PO_4, 1 grama de $MgSO_4$, 0,1 grama de $FeCl_3$ em 1000 centímetros cúbicos de água, e pH próximo de 5. A primeira experiência foi tentada com uma cultura tendo cinco dias de crescimento, posta em autoclave, tendo um pH de 4,6 no filtrado. Êste filtrado foi separado em duas partes. Em uma delas foi mantido o pH original; na segunda, ajustou-se o pH para próximo de 7. Posteriormente, cada parte foi misturada ao extrato de planta contendo o vírus. Diversas misturas assim preparadas permaneceram em laboratório durante tempos variáveis. Para cada pH diferente, o tempo de permanência da mistura no laboratório, antes da inoculação, foi, respectivamente, de uma hora, trinta minutos ou por um espaço de tempo exatamente necessário para ser operada a mistura, isto é, aproximadamente dois minutos.

Utilizou-se como testemunha o mesmo extrato das plantas contendo o vírus, diluído em água esterilizada, a 1:10.

Os resultados estão resumidos na parte superior do quadro 1.

Quadro 1.—Número de lesões observadas em metades de fôlhas de *Nicotiana glutinosa*, inoculadas com suco de plantas tratado ou não com o inativador obtido no filtrado de cultura de *Trichoderma* sp. em meio líquido

Índice pH no filtrado da cultura do *Trichoderma* sp.	Número de lesões produzidas nas fôlhas pela mistura em diferentes tempos de contacto e pela testemunha								
	60 minutos(1)		30 minutos(2)		2 minutos(3)		T o t a l		
	Mistura inativador	Testemunha	Mistura inativador	Testemunha	Mistura inativador	Testemunha	Mistura inativador	Testemunha	Perc. sôbre testemunha
	N.º	*N.º*	*N.º*	*N.º*	*N.º*	*N.º*	*N.º*	*N.º*	%
Primeira experiência									
4,6	7	45	15	49	31	112	53	206	26
7,0	3	54	20	49	24	117	47	220	21
Soma	10	99	35	98	55	229	100	426	---
Perc. sôbre test.	*10%*	---	*36%*	---	*15%*	---	*24%*	---	---
Segunda experiência									
4,6 (T–1)	52	124	———	———	13	43	84	382	22
4,8 (T–2)	15	165	———	———	4	50			
6,9 (T–1)	38	205	———	———	13	62	70	411	17
6,9 (T–2)	13	98	———	———	6	46			
Soma	118	592	---	---	36	201	---	---	---
Perc. sôbre test.	*20%*	---	---	---	*18%*	---	---	---	---

(1) e (2) Dados baseados em inoculações em quatro metades de fôlhas. (3) Os dados da primeira experiência se referem a oito metades de fôlhas inoculadas; os dados da segunda se basearam em apenas cinco metades de fôlhas.

Como se pode ver, não houve diferença sensível de ação para os filtrados com diferentes pH. Da mesma forma, a diferença de tempo de contacto na mistura de inativador e vírus não revelou resultados consistentes. Isso ainda é comprovado por inoculações feitas em três outras plantas utilizando as misturas de uma hora e de dois minutos de permanência, sendo cada mistura inoculada, separadamente, em doze metades de fôlhas,

do que resultaram 37 lesões para a mistura de uma hora e igualmente 37 lesões para a mistura de dois minutos de permanência, apresentando ambas pH 4, 6, e 38 e 35 lesões locais respectivamente, quando o pH era de 7,0.

. Em outra experiência, foi usada uma cultura que apresentava o filtrado com pH 4,6 após 38 dias de crescimento do *Trichoderma* sp., e a segunda com pH 4,8 após 24 dias de desenvolvimento do fungo. Essas culturas são denominadas, respectivamente, T–1 e T–2 no quadro 1 (segunda experiência). Uma parte de cada filtrado foi ajustada a pH 6,9 com o uso de NaOH a 0,5 N. Em seguida, cada uma delas foi misturada ao extrato de planta com vírus, permanecendo, cada mistura, durante uma hora, como anteriormente, e outra amostra sòmente pelo tempo de operação. Os resultados se acham resumidos na parte inferior do quadro 1. Também nesta, os resultados foram semelhantes aos da primeira experiência.

3.1 - ENVELHECIMENTO DE CULTURAS PARA A PRODUÇÃO DO INATIVADOR

As culturas de *Trichoderma* sp. foram preparadas em frascos de Erlenmayer, com esporos isolados. Uma série de frascos permaneceu no laboratório à luz do dia, em temperatura aproximada de 22° C, e a outra série em uma estufa a 27° C, em ambiente escuro. Esta última série nunca deu formação a esporos durante todo o tempo de desenvolvimento das culturas. No entanto, quando alguns dêsses frascos foram retirados da estufa e expostos à luz do dia, observou-se a produção de esporos, dois dias após essa operação.

No estudo do envelhecimento das culturas para a produção do inativador, tomou-se, cada dois dias, um frasco de cada uma das duas séries, os quais foram postos em autoclave durante 30 minutos. Depois de resfriados, foram mantidos em geladeira, a 0° C. Conservou-se, igualmente, na geladeira, amostra do meio de cultura original antes de ser inoculado com o fungo. Depois de interrompido o crescimento das culturas em escala sucessiva de tempo, tendo cada grupo de dois frascos uma idade diferente de desenvolvimento, foram realizados os testes, a fim de verificar a relação entre o tempo permitido para o desenvolvimento do fungo e a quantidade de inativador produzido em ambas as séries, isto é, na série conservada à luz do dia e na conservada no escuro.

Uma primeira série de inoculações, indicada no quadro 2, foi efetuada pelo tratamento do suco contendo o vírus com os filtrados de culturas de três idades diferentes, isto é, T–6 com 2 dias ; T–12 com 14 dias e T–16 com 22 dias (mantidas no incubador durante o desenvolvimento da cultura) e depois disso posta em autoclave e conservada em geladeira até o momento de ser usada, e duas culturas provenientes de crescimento do fungo à luz do dia, a saber : T–19 com dois dias e T–24 com catorze dias. De cada filtrado da cultura do fungo retirou-se uma amostra que foi ajustada a pH acima de 6,5. O extrato de plantas contendo o vírus foi tratado, portanto, com amostras de filtrados de cultura do fungo com idades diferentes de crescimento e com diferentes pH. Posteriormente, realizou-se uma

QUADRO 2.— Resultados de inoculações em fôlhas de *Nicotiana glutinosa* com suco de plantas infetadas com vírus, tratado com filtrado de culturas de *Trichoderma* sp. com diferentes idades, mantidas em ambiente escuro e à luz do dia. Inoculações efetuadas logo após a mistura do suco com o filtrado inativador

Idades das culturas de *Trichoderma* sp.	Série de inoculações	Filtrado com acidez natural				Filtrado com acidez ajustada			
		N.º de lesões observadas em 6 fôlhas inoculadas c/		Percentagem do tratado sôbre o não tratado	Acidez do filtrado	N.º de lesões observadas em 6 fôlhas inoculadas c/		Percentagem do tratado sôbre o não tratado	Acidez do filtrado
		suco tratado com o filtrado	suco não tratado (testemunha)			suco tratado com o filtrado	suco não tratado (testemunha)		
		N.º	*N.º*	%	*pH*	*N.º*	*N.º*	%	*pH*
FILTRADO DE CULTURAS MANTIDAS NO ESCURO									
2 dias (T–6)	1.ª	159	166	95,8	4,70	281	311	90,4	6,77
	2.ª	61	206	29,6					
14 dias (T–12)	1.ª	37	240	15,4	4,20	74	309	23,9	6,66
	2.ª	18	129	13,8					
22 dias (T–16)	1.ª	16	233	6,9	4,00	35	239	14,6	6,96
	2.ª	12	169	7,0					
Total		303	1143	26,5		390	859	46,6	
FILTRADO DE CULTURAS MANTIDAS À LUZ DO DIA									
2 dias (T–19)	1.ª	181 **	237 **	76,4	4,76	209	457	45,7	6,70
	2.ª	92	131	70,3					
4 dias (T–21)	1.ª								
	2.ª	39 *	63 *	61,9	4,70	87 *	47 *	185,0	7,70
12 dias (T–23)	1.ª								
	2.ª	42 *	96 *	43,8	4,50	73 *	65 *	112,8	7,50
14 dias (T–24)	1.ª	220	283	77,7	4,72	385	373	103,2	7,36
	2.ª	123	205	62,0					
Total		697	1015	68,6		754	942	80,0	
MEIO DE CULTURA ANTES DA INOCULAÇÃO COM *Trichoderma* sp.									
	1.ª	292	232	125,8	4,86	391	316	123,7	7,21
	2.ª	118	197	59,8					

* = número de lesões em 4 fôlhas inoculadas

** = número de lesões em 5 fôlhas inoculadas

segunda série de tratamentos, repetindo alguns dos filtrados usados na primeira série e tomando outros, com diferentes idades de desenvolvimento do fungo. Vê-se, pelo quadro 2, que, aparentemente, o grupo de frascos de culturas cultivadas no escuro mostra um crescimento contínuo na produção de inativador, a julgar pela diminuição progressiva no número de lesões locais produzidas. Por outro lado, a série com pH baixo, mantida sob a luz, mostra relativo aumento até o décimo segundo dia, após o que houve diminuição. Todavia, para filtrados cuja acidez foi ajustada a pH elevado, nessa série mantida sob a luz, os resultados foram inferiores aos obtidos com as amostras de pH baixo, com exceção das culturas com dois dias de crescimento. Segundo Weindling (8), a toxina que age sôbre os fungos é produzida dentro dos primeiros dois dias e meio de crescimento, depois do que a toxicidade do filtrado não aumenta mais. A toxicidade pode ser perdida depois dêsse período, devido à produção de esporos, que se inicia dentro dêsse espaço de tempo. Porém, quando a vegetação se realiza em ausência de luz, não há produção de esporos, pelo que a toxicidade se mantém em crescimento proporcional ao tempo de vegetação da cultura, dentro do período de tempo das presentes experiências, isto é, até 22 dias. Ainda comparando ambas as situações, a cultura mantida no escuro inicia a produção do inativador tardiamente, o que se evidencia pelos resultados dos filtrados T-6 e T-19, originados de culturas de dois dias de crescimento, mas em ambientes diferentes de exposição à luz.

3.2 - ISOLAMENTO DO INATIVADOR PRODUZIDO POR *TRICHODERMA* sp.

O método seguido foi o mencionado por Weindling e Emerson (9), com o uso do clorofórmio. As culturas mantidas no escuro, supostamente sob as melhores condições de cultivo, de acôrdo com os resultados anteriores, foram filtradas em papel de filtro, para separação de micélio.

O filtrado, uma vez limpo de micélio, foi tratado com clorofórmio, três vêzes consecutivas, sendo o volume de clorofórmio de 0,1 do volume do filtrado, por vez. O filtrado, misturado ao clorofórmio, foi agitado durante, aproximadamente, 10 minutos cada vez. Em seguida, o filtrado foi separado em filtro de separação e evaporado ou destilado. A destilação não se processou até o desaparecimento completo do clorofórmio, mas, sim, deixando sempre pequena quantidade de clorofórmio. No final, todo o líquido foi transferido para cápsula de porcelana, a fim de ser deixado em evaporação lenta, no meio ambiente. O resíduo, constituído por um material de côr amarela suja, foi de novo suspenso em álcool quente a 95% e, outra vez, deixado para evaporação natural.

De cada filtrado, após o tratamento com clorofórmio, foi separada uma amostra por vez, durante o andamento do processo, tendo sido mantida amostra do filtrado original, isto é, antes do tratamento com clorofórmio. Depois, tôdas as amostras foram submetidas a uma centrifugação durante 30 minutos a 2600 rotações, com o fim de separar o clorofórmio. Usou-se sempre a porção do líquido que ficou na parte superior dos tubos do centrifugador. Êsse processo foi executado repetidas vêzes. Em resumo,

as percentagens resultantes dos sucessivos tratamentos com clorofórmio são as seguintes : a) 50% ou 425 para 873 lesões locais, obtidas em 18 fôlhas inoculadas de *Nicotiana glutinosa*, para o suco infetado tratado com o filtrado ; b) 68% ou 686 para 1011 em 24 fôlhas, após o primeiro tratamento com clorofórmio ; c) 56% ou 419 para 753 em 14 fôlhas, após o segundo tratamento ; d) 48% ou 395 para 820 em 14 fôlhas, para o terceiro tratamento ; e) 14% ou 1 para 7 lesões locais em 6 fôlhas, após o quarto tratamento com clorofórmio. Pode-se daí concluir que, sob as condições destas experiências, o clorofórmio não extraiu completamente o inativador.

Foi tentada uma segunda experiência com filtrados já anteriormente utilizados para extração do inativador. Empregou-se o mesmo método do clorofórmio e com o mesmo processo geral. Os filtrados foram deixados em contacto com o clorofórmio durante 30 minutos, para cada tratamento. As amostras separadas foram centrifugadas e, depois, submetidas a teste, como anteriormente. Êsse filtrado, isto é, o usado pela segunda vez, deu, sôbre 4 metades de fôlhas, 237 para 66 lesões locais para o testemunha, ou sejam 359% de lesões locais em relação ao tratamento testemunha. Visto que os três tratamentos de clorofórmio não deram grande diferença, foram todos agrupados, resultando a relação 935 e 206 lesões locais, respectivamente, ou sejam 454% em relação ao tratamento testemunha. Como já se mencionou anteriormente, o inativador nunca foi completamente extraído pelo clorofórmio. Todavia, nessa experiência acima descrita, aparentemente o inativador se perdeu durante a permanência do filtrado no ambiente de laboratório, durante os 40 dias em que aí foi mantido. Deve-se mencionar que as culturas do fungo, no ambiente de laboratório, perdem sua atividade depois de certo tempo de vegetação. O maior número de lesões locais obtidas para a mistura, comparado ao extrato contendo vírus e não tratado, talvez possa ser explicado pela maior disseminação do "inoculum", facilitada pelo meio de cultura líquido que é o filtrado.

Uns poucos cristais, todavia, puderam ser obtidos dos diversos tratamentos com o clorofórmio. Êsses poucos cristais, que tinham a aparência de agulhas, foram suspensos em 100 cc de álcool. Êsse álcool foi diluído, para ser usado na inativação do vírus. A diluição de 1:10 deu 42 lesões locais para 64, ou sejam 66% em relação ao testemunha. As diluições maiores, porém, sempre resultaram em elevado número de lesões locais em relação ao testemunha e, portanto, sem capacidade inativadora quando muito diluído.

3.3 - SEPARAÇÃO DO INATIVADOR PRODUZIDO POR MEIO DE CENTRIFUGAÇÃO E ULTRACENTRIFUGAÇÃO

Uma cultura de 29 dias de idade, mantida no escuro e que, portanto, não tinha esporos formados, foi passada por uma filtração, a fim de separar o micélio. Uma segunda filtração, em papel de filtro, resultou em um filtrado claro, o qual foi centrifugado a 2600 rotações por minuto, em ambiente frio, durante uma hora e meia. Posteriormente, foi separada a parte superior e mantida em geladeira a 0° C. A massa de micélio sôbre o papel de filtro

foi lavada em água corrente, após o que foi moída em almofariz. Novamente foi filtrada em papel de filtro, e, do filtrado, uma parte foi centrifugada em ambiente frio, a 2600 r.p.m., durante meia hora. Como das outras ocasiões, as parcelas foram submetidas a teste em plantas de *Nicotiana glutinosa*. Os resultados foram, em número de lesões locais obtidas, de 10 e 105 para o tratado e testemunha respectivamente, ou sejam 10% a relação do filtrado da cultura para o extrato da planta com vírus, e de 6 e 77, ou sejam 8% do filtrado centrifugado e misturado ao extrato com vírus, para o extrato sòmente. Da última parcela, já centrifugada a 2600 r.p.m., uma parte foi ultracentrifugada a 35000 r.p.m., durante uma hora. O líquido ultracentrifugado ainda contido no tubo de vidro foi separado em três parcelas, isto é, superior, média e inferior. Esta última deveria conter o inativador, caso a ultracentrifugação tivesse conseguido precipitá-lo ; foi suspensa em 3,5 cc de água destilada, sendo o tubo agitado e esfregado internamente com auxílio de bastonete de vidro com proteção de borracha na extremidade. As três partes foram submetidas a teste em relação ao extrato de planta infetada, tôdas a uma diluição de 1:100. Os resultados, em números de lesões locais obtidas, são, respectivamente, os seguintes, para as três partes, em relação ao extrato de planta com vírus : 8 para 38, ou sejam 21% em relação ao testemunha, 4 para 24 ou 17% e 77 para 51 ou 151%. Pelo que se vê, a ultracentrifugação não precipitou o inativador, sendo os resultados semelhantes aos obtidos pelos filtrados não tratados.

3.4 - PRECIPITAÇÃO DO INATIVADOR PELA ACETONA

Culturas de *Trichoderma* sp., mantidas desde o início, durante 30 dias no escuro, foram filtradas, e o filtrado resultante, separado em amostras de 100 cc. Cada amostra de 100 cc foi tratada por acetona, na relação de duas vêzes o volume daquele (4). A mistura foi centrifugada a 2500 r.p.m., separada a parte superior e o precipitado foi novamente suspenso em água, em quantidade aproximada de um quinto do volume do líquido, após o tratamento com acetona. Essa suspensão foi de novo tratada com o dôbro do volume em acetona, outra vez centrifugada durante hora e meia a 2500 r.p.m. e, depois disso, separada a parte sobrenadante. O precipitado final foi novamente suspenso em 10 cc de água para a prova de inativação. O extrato normal de planta contendo o vírus foi diluído a 1:100 com a suspensão e, depois de ter agido durante dois minutos sôbre o vírus, o número de lesões locais foi de 5 e 18, ou sejam 28% na relação de tratado para o testemunha. Com a permanência de uma hora de contacto do precipitado e do extrato da planta contendo o vírus, resultou em 2 e 41 lesões, ou sejam 5%.

4 - DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O fungo *Trichoderma* sp., cultivado em meio líquido, produziu uma substância capaz de inativar o vírus do mosaico comum do fumo, atingindo até 90% de inativação, sob certas circunstâncias. Johnson e Hoggan (2) mencionaram o fungo como inativador de vírus, produzindo seu efeito

quando em meio de cultura contendo vírus do mosaico do fumo. Apesar de não mencionarem as percentagens dos resultados, afirmam não se ter portado o fungo como um excepcional destruidor do vírus. Comparando os resultados obtidos por êsses autores com os que se apresentam neste trabalho, o efeito maior aqui observado pode ser atribuído ao fato de se ter cultivado o fungo em meio líquido e se ter usado o filtrado da cultura para os testes de inativação do vírus. Pelo fato de o filtrado líquido ter mostrado ação inativadora, já após dois dias de cultura do fungo, se conclui que o inativador é produto de secreção externa.

A inativação se processa imediatamente após a mistura do filtrado ao extrato de planta contendo vírus, não tendo sido obtidos melhores resultados pelo contacto mais demorado.

Se as culturas se desenvolverem no laboratório, a uma temperatura de 22° C, o poder de inativação decresce após o segundo dia de desenvolvimento, da mesma forma como o mencionado por Weindling (8) para a ação contra *Rhizoctonia* sp. Se, porém, a cultura fôr mantida em crescimento, em ambiente escuro, à temperatura de 27° C, o inativador aumenta em concentração, pelo menos até aos 22 dias de desenvolvimento da cultura. Enquanto as culturas mantidas no escuro não dão formação a esporos do fungo, as mantidas à luz do dia formam esporos após o segundo dia de desenvolvimento, o que provàvelmente pode justificar a perda da capacidade inativadora para os filtrados destas, quando as culturas apresentam mais de dois dias de crescimento. Todavia, quando os filtrados de culturas mantidas no escuro foram transportados à luz do dia, perderam também a capacidade inativadora. Assim, a formação de esporos por si só não explica a perda de poder de inativação.

Segundo o método de Weindling, tentou-se isolar o inativador pelo uso de clorofórmio. O inativador não pôde ser completamente extraído do filtrado porque êste, após tratamento com clorofórmio, ainda mostrava alguma capacidade inativadora contra o vírus. Poder-se-ia, nas presentes experiências, estar à frente de um inativador diferente daquele que Weindling extraiu, e que se mostrava eficiente contra o fungo *Rhizoctonia* sp.

Por meio de ultracentrifugação, não foi possível conseguir a separação do princípio inativador.

Empregando o método de precipitação pela acetona, segundo Takahashi, foi obtido um precipitado esbranquiçado, que mostrou capacidade de inativação sôbre o vírus do mosaico de fumo.

SUMMARY

Trichoderma sp. grown in liquid medium produced a substance which has caused up to 90% reduction in the infection capacity of the tobacco mosaic virus, measured in number of local lesions on *Nicotiana glutinosa* half leaf inoculations. Under the present experiments the fungus has been grown in liquid medium and the filtrates used in inactivation tests on the virus. From the fact that the liquid filtrate showed inactivation power after only two days of culture it is concluded that the inactivation is of the nature of a secretion of the fungus into the liquid medium.

The inactivation proceeded within 2 minutes after mixture of the culture extract with the virus, no better results were obtained if the mixtures allowed to stand for a longer period of time.

If cultures were grown in the light in the laboratory the inactivation power decreased after the second day as was found by Weindling (**8**), for the effect on *Rhizoctonia* sp. If grown in the dark the inactivator continues to increase in concentrations for at least 22 days. In the dark no spores formation could be observed. Physiological activity associated with spores formation may be the reason for the loss of inactivator in day light grown cultures where spores start to be formed after the second day of growth.

Extraction of the inactivator with chloroform was attempted according to Weindling's method. The inactivator could never be completely extracted since the treated filtrate kept showing inactivation on tobacco mosaic virus. This suggests that the inactivator for the virus may be a different from the one found by Weindling against *Rhizoctonia* sp.

By ultracentrifugation at 35,000 r.p.m. no inactivator could be obtained from the filtrate.

Using Takahashi's acetone method a whitish precipitate could be obtained which showed an inactivation of tobacco mosaic virus.

LITERATURA CITADA

1. **Johnson, J.** Plant virus inhibitors produced by microorganisms. Science (ns.) **88**: 552–3. 1938.

2. **Johnson, J.** and **Ismé A. Hoggan.** The inactivation of ordinary tobacco mosaic virus by microorganisms. Phytopathology **27**: 1014–1027. 1937.

3. **Rawlins, T. E.** Em Phytopathological and botanical research methods. John Wiley & Sons, N. Y.

4. **Takahashi, William N.** A virus inactivator from yeast. Science **95**: 586–7. 1942.

5. **Waksman, Selman A.** and **Elizabeth S. Horning.** Distribution of antagonistic fungi in nature and their antibiotic action. Mycologia **35**: 47–65. 1943.

6. **Weindling, R.** Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology **24**: 1153–1179. 1934.

7. **Weindling, R.** Isolation of toxic substances from the culture filtrate of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Phytopathology **27**: 1175–1177. 1937.

8. **Weindling, R.** Toxins of *Gliocladium* and *Trichoderma*. Phytopathology **31**:991–1003. 1941.

9. **Weindling, R.** and **O. H. Emerson.** The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. Phytopathology **26**: 1068–1070. 1936.

NOTA

SUPERBROTAMENTO OU ENVASSOURAMENTO DA LARANJEIRA. A. S. Costa, Sílvio Moreira, L. F. Arruda, Carlos Roessing e I. Dias Toledo. Uma forma de superbrotamento ou envassouramento da laranjeira foi observada em um viveiro da Fazenda Santa Cruz, Araras, em 1949. Apenas poucas plantas mostravam a anomalia que, aparentemente, era de menor importância. Mais recentemente o envassouramento foi notado em um laranjal da Fazenda do Bosque, em Limeira. Neste pomar, com cêrca de 1.500 plantas de mais ou menos cinco anos de idade, de laranja tipo Pêra enxertada sôbre Caipira, grande número de plantas apresentavam o envassouramento. Uma contagem efetuada no laranjal desta combinação mostrou que cêrca de 30 por cento das plantas apresentavam a anomalia, tendo as restantes aparência normal ou sendo de natureza duvidosa.

As mudas plantadas na Fazenda do Bosque tinham sido formadas na Fazenda Campo Alto, em Araras. Informações colhidas neste local indicaram que cêrca de quinhentas mudas com envassouramento tinham sido eliminadas do viveiro, após o reconhecimento da anomalia. Foi ainda possível observar cêrca de dez plantas com sintomas de envassouramento, que já tinham sido transplantadas para o lugar definitivo. O crescimento destas plantas era bastante viçoso, embora estivessem completamente envassouradas. Estas mudas haviam sido retiradas de lote idêntico ao que fôra levado para a Fazenda do Bosque, em Limeira.

Sintomas do envassouramento : as plantas com envassouramento apresentam ramificação extremamente anormal, cheia de galhos extranumerários (est. 1, *A* e *C*). A tendência dêstes é para crescerem em posição mais vertical que a normal, mas alguns galhos basais da planta podem apresentar o crescimento do tipo cipó. Sintomas de fasciação também podem estar presentes em alguns galhos em fase de rápido crescimento. As plantas envassouradas crescem mais ràpidamente que as plantas normais vizinhas, mas a vegetação é mais amarelada. A produção das plantas envassouradas é extremamente reduzida, sendo difícil encontrar frutos em tais árvores.

Causas da anomalia : o tipo de envassouramento aqui descrito parece diferir dos casos relatados por Fawcett (1), pois a planta inteira apresenta sintomas da anomalia. Duas possibilidades poderiam explicar com mais facilidade a natureza do envassouramento da laranjeira : a) a anomalia é de causa genética, isto é, trata-se de mutação que vem sendo propagada inadvertidamente, talvez porque as plantas envassouradas possuem porte mais vigoroso ; b) o envassouramento é de causa patológica, sendo mais provável neste caso tratar-se de moléstia de vírus.

Se o envassouramento fôr de causa genética, a sua importância seria nula para o Estado, embora representasse perda importante para o citricultor que usou borbulhas dessas plantas na enxertia de seu viveiro, ou para aquêle que comprou mudas enxertadas com borbulhas de plantas envassouradas. Se fôr de natureza patológica, poderá vir a ser de maior ou menor importância econômica, conforme a facilidade de sua disseminação.

---

(1) Fawcett, H. S. *Em* Citrus diseases and their control. p. 345-347. McGraw Hill Book Co. 1936.

A observação da ocorrência do envassouramento parece indicar que é mais provável ser de causa genética. No viveiro da Fazenda Santa Cruz, as plantas envassouradas achavam-se em seguida, na mesma linha, indicando isto que provàvelmente tôdas tinham sido enxertadas com bourbulhas retiradas da mesma estaca. Não foi observada nenhuma planta em linhas vizinhas que apresentasse sintomas da anomalia. Na Fazenda do Bosque, em Limeira, as plantas com envassouramento estavam dispostas ao acaso, mas aí se tratava de plantação em local definitivo. Nesta propriedade existe um pomar de laranja Hamlin plantado ao lado do laranjal com envassouramento. Até o presente não foi notada nenhuma planta da variedade Hamlin com sintomas de envassouramento. Na Fazenda Campo Alto, em Araras, após a erradicação das mudas com envassouramento do viveiro, nenhuma outra planta foi observada, entre as remanescentes, que apresentasse sintomas da anomalia. As poucas plantas com envassouramento ainda existentes nesta propriedade estavam nó lugar definitivo, no pomar, e achavam-se ao lado de plantas normais de outras variedades.

Os fatos conhecidos sôbre o envassouramento parecem indicar que se trata de anomalia de causa genética, propagada pelo uso de borbulhas de plantas envassouradas. Poder-se-ia também pensar ser moléstia de vírus, disseminada apenas por meio da enxertia. A fim de verificar esta última possibilidade, iniciaram-se vários ensaios para determinar se borbulhas de plantas normais, enxertadas em copas de plantas com envassouramento, iriam produzir plantas normais ou envassouradas. Também está sendo verificado se a enxertia de borbulhas de plantas envassouradas, em plantas normais, poderá induzir o aparecimento do envassouramento na ramificação do cavalo. Os resultados serão obtidos daqui a vários meses e serão publicados oportunamente.

Caso seja confirmada a hipótese de que o envassouramento é de causa genética, as plantas com esta anomalia poderão ser reenxertadas com borbulhas de plantas normais, a fim de se evitar a perda de tempo que o citricultor teria, se substituísse tais plantas.

Qualquer que seja a causa do envassouramento, a observação de sua ocorrência vem indicar mais uma vez a importância da escolha cuidadosa de árvores matrizes das quais se retiram as borbulhas para enxertia. A boa árvore matriz apresenta copa sadia, vigorosa e de conformação típica ; produção abundante de frutos com as caraterísticas próprias da variedade.

SUMMARY

A few citrus plants showing a type of witches-broom were observed in a nursery at Araras, S. Paulo, Brazil. In a five-year old citrus grove planted at Limeira, S. Paulo, about 30 per cent of the plants of the graft combination Pera over Caipira showed the witches-broom symptoms.

Observations made on the occurrence of the anomaly indicated that it is probably associated with the use of budwood from witches-broom trees. Transmission tests are being carried on to determine whether this type of witches-broom is of genetical origin or due to a virus.

Laranjeiras de um pomar da Fazenda do Bosque. *A* e *C* — Plantas com envassouramento; *B* — planta normal da mesma idade.

SECÇÕES TÉCNICAS

Secção de Agrogeologia : — J. E. de Paiva Neto, M. S. Queiroz, M. Gutmans, A. C. Nascimento, A. Küpper, R. A. Catani, F. C. Verdade, H. P. Medina, A. Klinck, M. T. Piza.

Secção de Botânica : — D. M. Dedecca.

Secção de Café : — J. E. T. Mendes, F. R. Pupo de Morais, H. J. Scaranari.

Secção de Cana de Açúcar : — J. M. de Aguirre Júnior, J. B. Rodrigues, A. L. Segala.

Secção de Cereais e Leguminosas : — G. P. Viegas, N. A. Neme, H. da Silva Miranda, M. Alcover, J. Gomes da Silva, J. Andrade Sobrinho.

Secção de Conservação do Solo : — J. Quintiliano de A. Marques, F. Grohmann, J. Bertoni, F. M. Aires de Alencar, R. N. Tosello, G. B. Barreto.

Secção de Entomologia : — J. Bergamin, Luiz O. T. Mendes, Romeu de Tela.

Secção de Fisiologia e Alimentação de Plantas : — C. M. Franco, Osvaldo Bacchi, R. Inforzato, H. C. Mendes.

Secção de Fitopatologia Aplicada : — A. P. Viegas, C. G. Teixeira.

Secção de Fumo, Plantas Inseticidas e Medicinais : — A. Rodrigues Lima, S. Ribeiro dos Santos, A. Jacob.

Secção de Oleaginosas : — O. Ferreira de Sousa, V. Canecchio Filho, E. Abramides.

Secção de Química Mineral : — J. B. C. Néri Sobrinho, A. de Sousa Gomide, F. L. Serafini, J. A. Neger, I. Mendes.

Secção de Raízes e Tubérculos : — J. Bierrenbach de Castro, Edgar S. Normanha (substituto), A. Pais de Camargo, O. J. Boock, A. S. Pereira.

Secção de Tecnologia Agrícola : — A. Frota de Sousa, M. B. Ferraz, J. P. Néri, A. de Arruda Veiga, E. Castanho de Andrade.

Secção de Técnica Experimental e Cálculo : — C. G. Fraga Júnior, A. Conagin.

ESTAÇÕES EXPERIMENTAIS

Central de Campinas : — R. Forster, Miguel A. Anderson, R. Munhoz.

Boracéia : —

Capão Bonito : — A. Rigitano.

Jaú : — Hélio de Morais.

Jundiaí : — J. S. Inglês de Sousa.

Limeira : — C. Roessing.

Mococa : — M. Vieira de Morais.

Monte Alegre do Sul : — A. Gentil Gomes.

Pindamonhangaba : — R. A. Rodrigues.

Pindorama : — J. Aloisi Sobrinho.

Piracicaba : — H. Correia de Arruda.

Ribeirão Prêto : — V. Lazzarini.

São Roque : — W. C. Ribas.

Tatuí : — D. M. Correia.

Tietê : — V. Gonçalves de Oliveira.

Ubatuba : — Natal de Assis Correia.

IMPRIMIU:
INDÚSTRIA GRÁFICA SIQUEIRA S/A
RUA AUGUSTA, 235 — SÃO PAULO